

Papierchromatographische
Untersuchungen von Harnextrakten

von

CHRISTEL WAIDEN

Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin und Kriminalistik
der Universität Erlangen

Direktor: Professor Dr.med.et phil. E. W e i n i g

=====

"Papierchromatographische Untersuchungen von Harnextrakten".

INAUGURAL - DISSERTATION
zur
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der
FRIEDRICH - ALEXANDER - UNIVERSITÄT
zu
ERLANGEN

Vorgelegt von
Christel W a i d e n
aus Greifswald



Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen.

Dekan : Professor Dr. C. K o r t h

Referent: Professor Dr. Dr. E. W e i n i g

Tag der mündlichen Prüfung: 17. Dezember 1955

Meinem Mann gewidmet.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548202_0028

I n h a l t .

=====

Seite

I. E i n l e i t u n g .

- | | |
|---|---|
| 1. Zur Bedeutung der Papierchromatographie in der Gerichtsmedizin. | 1 |
| 2. Allgemeine Voraussetzungen für papierchromatographische Untersuchungen von Harn. | 2 |
| 3. Literaturangaben über die Papierchromatographie von Harninhaltsstoffen. | 3 |

II. E i g e n e U n t e r s u c h u n g e n .

- | | |
|---|----|
| 1. <u>Methodik.</u> | 7 |
| a) Anordnung | 7 |
| b) Lösungsmittel | 7 |
| c) Vorbereitung der Harne | 7 |
| d) Indikatoren | 8 |
| 2. <u>Durchführung der papierchromatographischen Versuche.</u> | 9 |
| a) Ätherextrakte von angesäuerten gealterten Leerharnen | 11 |
| b) Ätherextraktion von angesäuerten gealterten Leerharnen im Soxhlet-Apparat | 12 |
| c) Ätherextraktion von angesäuerten Frischharnen im Soxhlet-Apparat | 13 |
| d) Ätherextrakte von angesäuerten Leichenharnen | 14 |
| e) Ätherextraktionen von angesäuerten Leichenharnen im Soxhlet-Apparat | 15 |
| f) Chloroformextrakte von angesäuerten gealterten Leerharnen | 15 |
| g) Chloroformextraktionen von angesäuerten gealterten Leerharnen im Soxhlet-Apparat | 16 |
| h) Chloroformextraktionen von angesäuerten Frischharnen im Soxhlet-Apparat | 17 |
| i) Chloroformextraktionen von angesäuerten Leichenharnen im Soxhlet-Apparat | 17 |
| j) Ätherextrakt vom Harn eines Bromsüchtigen | 18 |

k) Übersicht über Anzahl und Art der verwendeten Harnextrakte (Tabelle 1)	19
1) Vergleichssubstanzen	19
III. <u>Besprechung der Ergebnisse</u>	25
IV. <u>Übersicht der Ergebnisse</u> <u>(Tabelle 2)</u>	27
V. <u>Zusammenfassung</u>	30
VI. <u>Literaturverzeichnis</u>	31

I. E i n l e i t u n g .

=====

1. Zur Bedeutung der Papierchromatographie in der Gerichtsmedizin.

Mit der Papierchromatographie kam zu den zahlreichen Untersuchungsverfahren der analytischen Chemie in den letzten zehn Jahren eine Methode, die es ohne komplizierte Apparaturen und mit einer relativ geringen Arbeitszeit ermöglicht, bestimmte Substanzen, auch wenn sie nur in Spuren auftreten, aus Gemischen heraus zu identifizieren. Durch die Möglichkeit eines gleichzeitigen Vergleichs mit bekannten Substanzen oder Farbreaktionen, Rf-Werten, Absorptionsspektren u.a. ist eine Charakterisierung unbekannter Stoffe möglich.

Diese günstigen Eigenschaften bringen es mit sich, daß papierchromatographische Untersuchungsmethoden auch in der Gerichtsmedizin Eingang fanden und in zunehmendem Maße verwendet werden. Die Zahl der auf diese Weise von vielen Autoren untersuchten Gifte bzw. Arzneimittel und deren Ausscheidungsprodukte ist ständig im Steigen begriffen.

P a l m i e r i und R o m a n o nehmen für sich in Anspruch, als erste (1949) die Papierchromatographie in die gerichtsmedizinische Praxis eingeführt zu haben. Sie gaben für zahlreiche Kationen, Barbiturate, Alkaloide und biogene Amine Lösungsgemische, Reagenzien und Rf-Werte an. Die Analyse des Harnes wurde von ihnen nicht besonders berücksichtigt.

J a t z k e w i t z entwickelte ein papierchromatographisches Verfahren zur Bestimmung von basischen Suchtmitteln im Harn, und zwar von Nikotin, Morphin, Dilauid, Eucodal, Dicodid, Cliradon, Dolantin, Dromoran, Polamidon und Pervitin. Die Nachweisgrenze liegt bei 15 - 20 Gamma pro 10 ccm Harn.

In Anlehnung an die von J a t z k e w i t z angegebenen Methoden erweiterten es S e i f e r t und G e l d m a c h e r noch auf zahlreiche aus alkalischem Milieu extrahierte organische Gifte und Therapeutica. Ebenfalls nach dem von J a t z k e w i t z angegebenen Lösungsmittelgemisch (Butanol, Ameisensäure, Wasser im Verhältnis 12 : 1 : 7) gelang es W e i n i g und S c h m i d t, Chinin und besonders Pyramidon aus dem Schweiß und Harn von Patienten papierchromatographisch nachzuweisen. S c h m i d t berichtet

in einer Arbeit über E 605-Vergiftungen neben anderen auch über einen papierchromatographischen Nachweis. Dasselbe führte P f e i l für E 605 und in einem ammoniakgesättigten Gemisch von Amylalkohol-Butylalkohol 1 : 1 für Barbiturate durch. R a v e n t ó s wandte die PCG (Abkzlg.: Papierchromatographie) zur Bestimmung von Barbituraten im Urin von Tieren nach Thiobarbituratinjektionen an. K a i s e r und J o r i fanden einen sehr empfindlichen Nachweis für Dromoran "Roche" im Harn in einem Butanol-Salzsäure-Wassergemisch im Verhältnis 4 : 1 : 5 und anschließender Berliner Blau-Reaktion. Schließlich seien hier noch die Dissertationen über den papierchromatographischen Nachweis von Thiopental bzw. Trapanal im Harn (A r o l d), Persedon im Harn (F a b i a n), Pyramidon, Antipyrin und deren Ausscheidungsprodukte im Harn (S c h o l z) aus dem hiesigen Institut genannt.

2. Allgemeine Voraussetzungen für papierchromatographische Untersuchungen von Harn.

Die Anwendbarkeit der Trennung und Erkennung von Substanzen im Papierchromatogramm ist dann gegeben, wenn die Stoffe

1. sowohl im Wasser wie in organischer Phase wenigstens etwas löslich sind;
2. wenn sie durch physikalische Eigenschaften oder chemische Reaktionen auf dem Papier sichtbar gemacht werden können;
3. wenn sie weder mit Cellulose noch mit den verwendeten Lösungsmitteln reagieren. (C r a m e r).

Die Erfahrungen bei den papierchromatographischen Versuchen ergaben, daß miteinander verwandte Substanzen immer nur ein für sie am besten geeignetes Lösungsmittelgemisch gemeinsam haben. Nun setzt sich gerade der Harn aus vielen verschiedenen Bestandteilen zusammen (11,14), daß es nicht möglich ist, sie alle mit einem einzigen Lösungsmittel in ihre Komponenten zu trennen. Außerdem wäre es in der toxikologischen Praxis wegen der meist geringen Menge des vorhandenen Materials schwer, eine Untersuchung mit beliebig vielen Lösungsmitteln durchzuführen. Man erstrebt daher mit möglichst wenigen, vielseitig verwendbaren Lösungsmittelgemischen auszukommen.

Bei der Extraktion von Harn gehen zahlreiche Substanzen in saure Extrakte über, die offensichtlich zu seinen normalen

Bestandteilen gehören. S c h m i d t beobachtete, daß die Substanzen bei saurer Reaktion zum großen Teil nicht zu identifizieren sind, offenbar wegen schlechter Trennung. Als Lösungsmittel der Wahl wurde daher das alkalische Gemisch von Butanol, gesättigt mit verdünntem Ammoniak, genommen.

3. Literaturangaben über die Papierchromatographie von Harninhaltsstoffen.

Bei Durchsicht der mir erreichbaren Literatur fand ich zwar keine umfassende Arbeit über papierchromatographische Untersuchungen von Harnextrakten, aber es lagen einige Veröffentlichungen vor, die diese spezielle Methode zum Nachweis von den weiter unten angeführten Substanzen aus dem Harn heranziehen.

Größere Untersuchungsreihen über den Aminosäuregehalt des Urins sind nach C r a m e r von den Autoren A m e s , D e n t , S t e p k a , S t e w a r d und H a l l durchgeführt worden. K e h l und S t i c h berichten über den papierchromatographischen Nachweis von Porphyrinen und Gallenfarbstoffen, B o s c o t t über Säuren und Phenole des Urins. Eine ausführliche Arbeit über Fluoreszenzstoffe des Harns, in der auch auf papierchromatographisch nachweisbare eingegangen wird, liegt aus dem hiesigen Institut von S z e r e m e t a vor.

Besondere Erwähnung verdienen hier die Arbeiten von D e c k e r. Der Autor beschäftigt sich vorwiegend mit normalen Harninhaltsstoffen, unter dem Gesichtspunkt, mit alteingeführten klinischen Reaktionen (Ehrlichs Reagens, Obermayers Reagens und andere) meist Chromogene identifizieren und differenzieren zu wollen. Bei der großen Anzahl von Flecken, die D e c k e r gefunden hat und die nach den papierchromatographischen Versuchen auf chemisch differente Körper hinweisen, ist es ihm gelungen, einen kleinen Teil aufzuklären; viele Substanzen auf den Chromatogrammen aber sind noch unbekannt. Von D e c k e r sind uns drei Mitteilungen über Harninhaltsstoffe bekannt:

1. Mitteilung: D e c k e r verwandte die aufsteigende Methode, und zwar bevorzugt er das zweidimensionale Verfahren. Als Lösungsmittel nahm er in der ersten Dimension meist die obere Phase eines Gemisches von 75 Teilen n-Butanol, 5 Teilen konz. Ammoniak und 20 Teilen Wasser, ferner auch ein Gemisch von 80 Teilen

96 %igen vergälltem Alkohol und 20 Teilen Wasser; für die zweite Dimension vorwiegend ein Gemisch von 70 Teilen Isopropylalkohol, 20 Teilen Eisessig und 10 Teilen Wasser.

Farbreaktionen: Ehrlichsche Aldehydreaktion (Besprühen mit einer Lösung von 2 % Dimethylaminobenzaldehyd in 5 %iger Salzsäure), die Uroroseinreaktion (Besprühen mit einer frisch hergestellten Lösung von 0,5 % Natriumnitrit in etwa 1n-Salzsäure), die Diazo-reaktion (Besprühen mit der üblichen Mischung von Diazo I und II, anschließend Besprühen mit Ammoniak).

Es wurden normale und pathologische Harne von Menschen und Hunden untersucht. Bei den Ergebnissen schreibt D e c k e r u.a.: "Von der großen Zahl der nachgewiesenen Stoffe konnten nur einige bisher identifiziert werden."

Reaktionen mit Dimethyl-p-aminobenzaldehyd (DAB).

Indoxylschwefelsäure:Nach Besprühen mit Obermayers Reagens (FeCl_3 - haltiger Salzsäure) sowie schon nach mehrtägigem Liegen in der säurehaltigen Luft des Laboratoriums tritt die blaue Indigofärbung auf, die auf der gleichzeitigen Bildung von Indigo und Indirubin beruht. Nach Besprühen mit D A B und nach etwa 10 Minuten mit konz. Ammoniak schlägt die anfänglich braune bis grünliche Färbung in ein intensives Scharlachrot um. Im UV-Licht fluoresziert der Farbstoff dann sehr intensiv orangerot.

Tryptophan wurde durch Vergleichssubstanzen und durch die Ninhydrinreaktion identifiziert.

Ein noch nicht bekanntes Stoffwechselprodukt des Skatols, das vom Skatolrot verschieden ist, wurde ebenfalls nachgewiesen. Die Substanz färbt sich mit D A B zunächst violett und wird nach kurzer Zeit reinblau. Solange sie noch violett ist, zeigt sie eine charakteristische karminrote Fluoreszenz unter der UV-Lampe. Beim anschließenden Besprühen mit Ammoniak oder mit Nitritlösung tritt die Blaufärbung sofort auf. Hinsichtlich ihrer Rf-Werte ähnelt die Substanz in allen Lösungsmitteln der Indoxylschwefelsäure und tritt papierchromatographisch mit in der Regel ein wenig höheren Rf-Werten sozusagen als deren Begleiter auf. Mit Obermayers Reagens färbt sie sich, ebenso wie nach Besprühen mit Salzsäure allein, nach einiger Zeit blau. Mit allen drei Reagenzien entstehen zwei Farbstoffe (Rf-Werte im Isopropylalkohol-Eisessiggemisch 0,45 und 0,95), die von dem aus dem benachbarten Indikan entstehenden Indigo (Rf 0,65) verschieden

sind. Vielleicht handelt es sich bei der Substanz um die bisher nur mangelhaft charakterisierte sog. "Skatoxylschwefelsäure". Skatolrot (Rf 0,24 im Butanol-Ammoniakgemisch) färbt sich mit dem D A B - Reagens und mit Salzsäure allein nach einiger Zeit, mit Nitrit sofort rot, und bleibt nach D A B - Behandlung im Gegensatz zu Indolessigsäure rot, während letztere zunächst rosa herauskommt und nach kurzer Zeit violett und schließlich blau wird. Harnstoff ergibt einen gelben Fleck.

Uroroseinreaktion: Mit dem Nitritsprühreagens lieferten Indollessigsäure und Skatolrot rosarote Flecke. Indolessigsäure gibt auch auf dem Papier die Reaktion von Salkowski (Umschlag der mit D A B anfangs rötlichen Färbung nach blau bei Behandlung mit Nitrit). Skatolrot gibt diese Reaktion nicht.

Diazoreaktion: Die Papierchromatogramme ergaben eine ganze Reihe von Flecken. Einige davon zeigten ein ausgesprochenes Indikatorverhalten, indem sie in alkalischer Lösung rote und in saurer Lösung gelbe Flecken zeigten. Die Identifizierung der Substanzen steht noch aus.

2.Mitteilung: Hierin wird die Untersuchung von Harnindikanen und ähnlichen Substanzen beschrieben.

Die Empfindlichkeit des papierchromatographischen Indikannachweises mit Dimethyl-p-aminobenzaldehyd und Säure (Ehrlichs Reagens = E R) wird um mindestens eine Größenordnung erhöht, wenn man anschließend mit Ammoniak besprüht und im UV-Licht betrachtet. Es tritt eine außerordentlich intensive und charakteristische Fluoreszenz auf dunkelblauem Grunde auf, welche die Erkennung von weniger als 1 Gamma Indikan gestattet (von D e c k e r "Fluorindalreaktion" benannt). Die Fluoreszenz tritt nur auf, wenn der Farbstoff an Papier adsorbiert ist. Gelöst in Alkoholen oder nach Besprühen mit solchen ist die Fluoreszenz gelöscht. Die Lösungen des Farbstoffes in unpolaren Lösungsmitteln fluoreszieren zwar, doch ist der Farbton hierbei uncharakteristisch grünlich-blau.

Indikane: Mit Hilfe dieser Reaktion wurde zunächst gezeigt, daß es nicht nur die bisher beschriebenen Harnindikane Indoxylschwefelsäure und Indoxylglucuronsäure gibt, sondern mindestens vier durch ihre Rf-Werte voneinander unterscheidbare, fluorindalpositive Substanzen.

Die drei nachgewiesenen Nebenindikane geben nicht nur die gleiche charakteristische Fluorindalreaktion sondern auch, soweit dies angesichts ihrer geringen Menge erkennbar ist, sowohl die nach Besprühen mit E R sich entwickelnde braune bis grünliche Färbung als auch den Farbumschlag nach Scharlachrot beim Besprühen mit Ammoniak.

Indikanoide: Eine weitere Gruppe von Substanzen mit ähnlicher Fluorindalreaktion wurde unter den Stoffwechselprodukten des Skatols gefunden. Diese Gruppe, welche mindestens aus fünf Stoffen mit verschiedenem Rf-Wert, jedoch gleichen Reaktionen besteht, unterscheidet sich von den Indikanen dadurch, daß sie mit E R und Ammoniak zwar auch die scharlachrote Färbung und orangefarbene Fluorindalreaktion geben, nach Verdunsten des Ammoniaks oder Ansäuern aber nicht die bräunliche Färbung der Indikane, sondern eine reinblaue Färbung zeigen. Die gleiche Farbe erscheint auch allmählich nach Behandlung mit E R allein.

3. Mitteilung:

Verwendete Lösungsmittel	Rf-Wert der Indoxylschwefelsäure
a) n-Butanol gesätt. mit 1/3 Vol. 2n-Ammoniak	0,28
b) 70 % (V/V) Isopropylalkohol 20 % Eisessig und 10 % Wasser	0,30
c) 80 % (V/V) 96-proz. Äthanol, 20 % Wasser	0,62
d) obere Phase von 60 % n-Butanol (V/V), 10 % Eisessig und 30 % Wasser	0,43

Kalte Millon-Reaktion: Besprühen mit Millons Reagens und nach 10. min mit konz. Ammoniak-Wasser 1 : 1. Indikan gibt einen braunroten Fleck.

Durch papierchromatographischen Vergleich von Harnkonzentraten, isolierter und synthetischer Indoxylschwefelsäure wird bewiesen, daß die in der Kälte auftretende Millon-Reaktion des Harns auf Indoxylschwefelsäure zurückzuführen ist (Zusammenfassung).

Ich habe die Aufgabe gehabt, Vergleichsuntersuchungen von zahlreichen Leerharnen durchzuführen, um Anhaltspunkte über das Auftreten von Harnsubstanzen zu gewinnen und die Identifizierung

dieser Substanzen zu versuchen. Zu diesem Zweck wurden Vergleichssubstanzen untersucht und mit den Harnflecken verglichen.

II. Eigene Untersuchungen . =====

1. Methodik.

a) Anordnung.

Bei meinen Versuchen verwandte ich die bequeme eindimensionale aufsteigende Methode nach Williams, Kirby auf Filterpapier Nr. 2043 b der Firma Schleicher und Schüll. Das im Format 60 x 58 cm gelieferte Papier wurde in seiner Längsrichtung in Streifen von 17 x 50 cm geschnitten. 4 cm vom unteren Rand entfernt wurde eine Startlinie eingetragen, der obere Rand etwa 5 cm eingebogen und mit zwei Klammern festgeheftet. Die so entstandene Schlaufe diente zum Einhängen der Chromatogramme in einen Glasbehälter (20 x 20 x 60 cm) mit dem Lösungsmittelgemisch, indem sie über einen Glasrechen gestülpt wurde, der durch einen Gummistopfen in der Mitte des Glasdeckels in den Behälter ragte. Um einen möglichst luftdichten Abschluß zu erreichen, wurde der Schliffrand des Gefäßes mit Hahnfett eingerieben.

b) Lösungsmittel.

Das Lösungsmittel bestand aus einem Gemisch von Butanol, Ammoniak (liq.ammon.caustic., 25 % NH_3) und Wasser im Verhältnis 20 : 1 : 7.

c) Vorbereitung der Harne.

Zur Herstellung brauchbarer Konzentrate wurde der Harn (100 - 200 ccm) einer Extraktion unterzogen.

Die Extraktion angesäuerter Harne mit Äther: Nach Feststellung der Reaktion wird der Harn mit einigen Tropfen Salzsäure angesäuert, in einem Scheidetrichter mit der doppelten Menge reinen Äthers ausgeschüttelt, der Äther nach Ablassen des Harnes mit Natrium sulfuricum anhydricum getrocknet, in eine Abdampfschale filtriert und mit Warmluft abgedampft. Zur Herstellung eines zweiten Extraktes wurde an Stelle von Äther Chloroform genommen.

Die Extraktion angesäuerter Harn mit Äther im Soxhlet-Apparat:

Nach Feststellung der sauren Reaktion wird der Harn mit einigen Tropfen Schwefelsäure versetzt. Schwefelsäure deshalb, weil sie sich bei dem jetzt folgenden Eindampfen des Harnes in einer großen Pfanne mittels Warmluft (Föhn), das oft stundenlang dauert, nicht verflüchtigt. Andererseits darf man nicht zu stark ansäuern, da sonst die stark hygroskopische Schwefelsäure das Eindampfen erschwert. Wenn der Harn eine sirupartige Konsistenz erreicht hat, wird er mit einem Spatel zusammengeschabt, in eine Extraktionshülse gefüllt und in den Soxhlet-Apparat gestellt. Hierin wird etwa 3 Stunden lang mit Äther, anschließend 3 Stunden mit Chloroform extrahiert. Die auf diese Art gewonnenen Extrakte werden in Abdampfschalen mit dem Föhn eingedampft und als Äther- bzw. Chloroformperforation des angesäuerten Harnes bezeichnet.

Während sich der fertige Extrakt beim einfachen Ätherauszug als brauner, der Chloroformauszug als kaum wahrnehmbarer Niederschlag in der Abdampfschale zeigten, waren bei der Extraktionsmethode im Soxhlet-Apparat reichlich Niederschläge mit gut ausgeprägten Kristallisationsformen zu sehen. Die Farbe der Harnextraktionsrückstände mit Äther war kräftig mittelbraun, mit Chloroform hellbraun.

Sämtliche Harnextrakte waren in Alkohol gut löslich.

d) Indikatoren.

Die Sichtbarmachung der Flecken auf dem fertigen Papierchromatogramm wurde mit den in unserem Institut gebräuchlichsten Indikatoren, nämlich der Betrachtung im ultravioletten Licht und mit verschiedenen Farbreaktionen versucht:

1. Fluoreszenzanalyse im ultravioletten Licht.
2. Ehrlichs Reagens: Besprühen mit einer Lösung von 2 g Dimethyl-p-aminobenzaldehyd in 100 ccm 6 %iger Salzsäure.
3. Millons Reagens: 1 ccm Quecksilber wird in 9 ccm Salpetersäure ($D = 1,5$) gelöst und mit gleichem Volumen Aq.dest. verdünnt.
4. Salzsäure FeCl_3 -Lösung: in 15 ccm Aq.dest. werden 2 Tropfen einer 12,5 %igen Salzsäure gegeben und mit 8 - 10 Tropfen

einer gesättigten Eisen-III-chloridlösung versetzt.

5. Muniers Reagens: Dieses Reagens setzt sich aus zwei Lösungen zusammen: Lösung 1 0,85 g Wismutsubnitrat
40 ccm Aq.dest.
10 ccm Eisessig
Lösung 2 8 g Kaliumjodid
20 ccm Aq.dest.

Beide Lösungen werden in braunen Flaschen aufbewahrt. Zum Besprühen verwendet man eine frisch hergestellte Lösung von 5 ccm der Lösung 1 und 5 ccm der Lösung 2 in 20 ccm Eisessig auf 100 ccm Aq.dest.

6. Ninhydrin-Lösung: Besprühen mit einer 2 %igen wäßrigen Ninhydrinlösung.
7. Bromkresolgrün-Lösung: Dieses Reagens wurde nur einige Male als pH-Indikator mit einem Farbumschlag zwischen 3,8 - 5,6 zur Sichtbarmachung von Reinsubstanzen versucht, bei denen die anderen Indikatoren nicht zum Erfolg führten.

2. Durchführung der papierchromatographischen Versuche.

Zur Verwendung gelangten hauptsächlich "Leerharn", d.h. Harn von Personen, die längere Zeit keine Medikamente oder größere Mengen von Nikotin und Alkohol zu sich genommen hatten; ferner einige Leichenharn und ein Harn von einem "Bromsüchtigen". Bei den Leerharnen wurde noch zwischen Harnen, die 4 - 7 Tage bei Zimmertemperatur in geschlossenen Gläsern standen, und Harnen, die sofort oder spätestens nach 2 - 3 Stunden verarbeitet wurden, unterschieden; letztere sind als "Frischharn" bezeichnet.

Die Vergleichssubstanzen, die mit den Harnextrakten zusammen chromatographiert wurden, lagen meist in Form ihrer Salze vor. Sie wurden mit 96 %igem Alkohol, schwachen Laugen oder schwachen Säuren in Uhrgläschen gelöst.

Die gelösten Substanzen (Harnextrakte und Reinsubstanzen) wurden mit einer Mikropipette aufgenommen und auf die Startlinie der zwischen Holzleisten gespannten Chromatogramme aufgetragen. Die

Flecke wurden $1/2 - 1$ cm im Durchmesser und in einem Abstand von etwa 2,5 cm zueinander gehalten. Damit das Eintrocknen schneller von statten ging, wurde während des Auftragens unter Warmluftstrom (Föhn) gearbeitet. Bei Zimmertemperatur wurden die Papierchromatogramme in den Behälter gehängt, zunächst ohne in das Lösungsmittelgemisch einzutauchen, damit sie sich an der dort herrschenden Atmosphäre sättigten. Nach etwa 1 - 2 Stunden wurden die Chromatogramme 1 cm tief in die Flüssigkeit eingetaucht. Es ist praktisch, dies am Abend durchzuführen, weil das Lösungsmittel ungefähr 16 - 20 Stunden braucht um 26 - 30 cm im Chromatogramm aufzusteigen; bekanntlich verhält sich die Steiggeschwindigkeit umgekehrt proportional zur Steighöhe.

Die fertigen Chromatogramme wurden aus ihrem Gefäß genommen, mit der Schlaufe zwischen Holzleisten geklemmt und frei hängend nach Einzeichnen der Lösungsmittelfront mit Warmluft getrocknet. Nach dem Trockenwerden erfolgte die Betrachtung im ultravioletten Licht. Hier zeichnete ich die Ausdehnung und Farbe der auftretenden Fluoreszenzen mit Bleistift an. Danach besprühte ich die Papierchromatogramme mit den verschiedenen Reagenzien (Ehrlichs Reagens, FeCl_3 -Lösung, Millons und Muniers Reagens, Ninhydrin-Lösung) wie oben beschrieben von beiden Seiten, bis sie gleichmäßig - aber nicht zu stark - durchfeuchtet waren, hängte sie mit Stecknadeln auf und ließ sie bei Zimmertemperatur lufttrocknen. Die nun sichtbar werdenden Flecke zeichnete ich mir ebenfalls an. Bei der Arbeit ist darauf zu achten, daß keine Verunreinigungen von Fingern u.a. an das Filterpapier kommen, weil dies zu irreführenden Flecken führen kann.

Von den Flecken bestimmte ich den Rf-Wert, das ist die Wanderungsgeschwindigkeit einer Verbindung, definiert als der Quotient aus Entfernung der Substanz vom Ausgangspunkt durch Entfernung der Lösungsmittelfront. Die erhaltenen Ergebnisse trug ich jeweils in Tabellen ein, die mir am Schluß des experimentellen Teils meiner Arbeit die Grundlage für die Auswertung bildeten. Zur besseren Übersicht sei nochmals der Arbeitsgang kurz zusammengefaßt:

1. Abmessen und Ansäuern (H_2SO_4) der Harnmenge.
2. Eindampfen des Harnes.

Extrahieren mit Äther bzw. Chloroform mit anschließendem Eindampfen der Extrakte.

4. Vorbereiten des Filterpapiers.
5. Lösen der Harnextrakte in Alkohol, sowie Lösen der Vergleichssubstanzen in Alkohol, schwachen Säuren oder Laugen.
6. Auftragen eines Bruchteils des Extraktes und der gelösten Substanzen auf das Filterpapier.
7. Nach vorheriger Sättigung (1 - 2 Stunden) Einhängen der Papierchromatogramme in das Lösungsmittelgemisch.
8. Trocknen der Chromatogramme mit Warmluft.
9. Betrachten im ultravioletten Licht, Besprühen mit den Reagenzien.
10. Trocknen bei Zimmertemperatur und Auswertung.

Im folgenden findet eine Beschreibung der aufgetretenen Fluoreszenzen und Farbreaktionen bei den papierchromatographischen Versuchen statt. Die 34 Äther- bzw. Chloroformextrakte wurden aus Harnen von 9 gesunden Versuchspersonen, einem Bromsüchtigen und 3 Leichen hergestellt; siehe Tabelle 1. Wegen der Vielzahl der verwendeten Reagenzien mußten von jedem Extrakt jeweils fünf Startflecken aufgetragen und getrennt bearbeitet werden. Nach Besprühen der Chromatogramme mit den einzelnen Reagenzien traten die aufgeführten Flecke nicht bei jedem aufgesetzten Harnextrakt auf, sondern nur bei einigen; die genaue Anzahl wird jeweils in Klammern dazugeschrieben. Zum Beispiel mit Ehrlichs Reagens traten bei 5 Ätherextraktionen 4 mal gelbe Flecke bei R_f 0,22, 2 mal braune bei R_f 0,1 usw. auf. Dasselbe gilt sinngemäß für die aufgetretenen Fluoreszenzen bei Betrachtung im UV-Licht.

a) Ätherextrakte von angesäuerten gealterten Leerharnen.

Ultraviolettes Licht.

Bei 6 Harnextrakten traten folgende Fluoreszenzen auf:

Braun (4 mal) zwischen R_f 0,1-0,14; blau bei $R_f < 0,1$ (1 mal) 0,17 (2 mal) 0,23 (1 mal) 0,39 (1 mal), sowie leuchtend blau bei $R_f < 0,1$ -0,14 (3 mal) 0,26 (1 mal). Ein roter Farbfleck ließ sich 2 mal bei R_f 0,3 und 0,36 feststellen.

Ehrlichs Reagens.

Bei 5 Harnextrakten traten gelbe Flecke bei Rf 0,22 (4 mal) und Rf 0,12-0,14 (2 mal) auf, ferner braun bei Rf < 0,1 (2 mal) und rötliche bei 0,16 und 0,17.

FeCl₃-Lösung.

Bei 6 Harnextrakten gab es braune Farbreaktionen bei Rf 0,11 (1 mal) und 0,17 (2 mal), ferner je 1 mal rot bei Rf 0,15 und grün bei Rf 0,26.

Millons Reagens.

Bei 4 Harnextrakten traten bei den Rf-Werten < 0,1 braune (4 mal) 0,17-0,18 orange bis rote (3 mal) und bei Rf 0,12 und 0,30 je einmal gelbe Fleckenbildungen auf.

Muniers Reagens.

Bei 3 Harnextrakten sah man braune bis rote Flecke (2 mal) und braune Flecke (2 mal) bei den Rf-Werten 0,1 bzw. 0,19.

Ninhydrin-Lösung.

Bei 2 Harnextrakten gab es je 1 lila Fleck bei Rf < 0,1 und 0,19.

b) Ätherextraktionen von angesäuerten gealterten Leerharnen im Soxhlet-Apparat.

Ultraviolette Licht.

Bei 8 aufgesetzten Harnextrakten trat eine verwirrende Fülle von Fluoreszenzen auf, hauptsächlich braune und blaue, und zwar braun bei den Rf-Werten < 0,1-0,19 (7 mal) und je 1 mal bei Rf 0,33 und 0,4; blau bei den Rf-Werten 0,11-0,16 (7 mal) 0,21 (2 mal) 0,3-0,37 (6 mal) 0,7 (1 mal) 0,8 (1 mal) 0,89 (2 mal), lila bei Rf 0,21 (1 mal), sowie leuchtend blau bei Rf 0,17-0,21 (4 mal) 0,26 (1 mal) 0,43 (2 mal) und leuchtend hellblau bei Rf 0,38 (1 mal). Dann waren noch eine Anzahl gelber Fluoreszenzen zu sehen bei Rf 0,11 (1 mal) 0,23-0,3 (4 mal) 0,67-0,7 (2 mal) 0,54-0,58 (4 mal), sowie grün bis gelb bei Rf 0,1 (1 mal) und 0,3 (2 mal). 2 mal traten schließlich noch rote Fluoreszenzen auf bei Rf 0,31 und 0,34.

Ehrlichs Reagens.

Bei 8 Harnextrakten gab es sehr kräftige gelbe Farbreaktionen zwischen Rf 0,23-0,26 (8 mal), und nicht ganz so starke, aber gut wahrnehmbare zwischen Rf 0,14-0,17 (4 mal). An weiteren Reaktionen waren zu sehen braun Rf < 0,1 (3 mal), blau Rf 0,1-0,11 (4 mal) und bei Rf 0,21 (1 mal), blau-grün bei Rf 0,31-0,33 (3 mal), grün bei Rf 0,19 (1 mal), rot bei Rf 0,17 (1 mal) und orange bei Rf 0,37.

FeCl₃-Lösung.

Bei 7 Harnextrakten zeigten sich 6 mal braune Farbflecken zwischen Rf < 0,10-0,11 (3 mal) bzw. 0,18-0,21, ferner rotbraun bei Rf 0,33 (1 mal) und je 1 mal rot bei Rf 0,15; 0,29; 0,67. 3 mal gelbe Flecke traten bei Rf 0,12-0,14 und schwach gelb bei Rf 0,24 (1 mal) auf, und schließlich je 1 mal orange bei Rf 0,31 sowie lila bei Rf 0,39.

Millons-Reagens.

Bei 6 Harnextrakten traten hauptsächlich braune und rote Farbreaktionen auf, und zwar braun bei den Rf-Werten 0,11 (3 mal) und 0,21-0,25 (5 mal), rot je 1 mal bei den Rf-Werten 0,11; 0,15; 0,17; 0,3; 0,33; 0,8. Ferner gab es noch lila Reaktionen bei Rf 0,1 (1 mal) und 0,17 (2 mal) und je 1 mal eine gelbe bei Rf 0,15 und eine orange bei Rf 0,18.

Muniers Reagens.

Bei 7 Harnextrakten traten neben den Farbreaktionen rot Rf 0,11 (2 mal) Rf 0,56 und 0,83 (je 1 mal), rot bis orange Rf 0,29-0,33 (3 mal), gelb Rf 0,22 und 0,25 (je 1 mal), weiße Aussparungen bei den Rf-Werten < 0,1-0,11 (3 mal), 0,2 (1 mal) 0,31 (1 mal) auf, die meistens nach 1-3 Tagen verschwanden.

Ninhydrin-Lösung.

Bei 6 Harnextrakten ergab dieser Indikator folgende Farbflecke: lila zwischen Rf 0,1-0,15 (3 mal), gelb 0,25-0,28 (2 mal), orange bis braun 0,11 (3 mal), braun 0,3 (2 mal), je 1 mal rot bei Rf 0,2 und 0,35 und 1 mal eine weiße Aussparung bei Rf 0,37.

c) Ätherextraktionen von angesäuerten Frischharnen im Soxhlet-Apparat.

Ultraviolett Licht.

Bei den 3 untersuchten Harnextrakten zeigten sich ebenfalls zahlreiche Fluoreszenzen, und zwar braun bei den Rf-Werten $\leq 0,1$ - $0,13$ (3 mal), $0,27$ (1 mal), $0,78$ (1 mal); gelbbraun bei Rf $0,32$ (1 mal) blau bei Rf $0,11$ (2 mal), $0,51$ (1 mal; leuchtend blau bei Rf $0,17$ - $0,21$ (2 mal), $0,43$ (2 mal); leuchtend hellblau bei Rf $0,38$ (2 mal). Dann zeigten sich noch rot bei Rf $0,34$ (2 mal) und je 1 mal grün bzw. gelb bis grün bei Rf $0,17$ bzw. $0,3$.

Ehrlichs Reagens.

Bei 3 Harnextrakten gab es wieder jedesmal den gelben Fleck bei Rf $0,23$ - $0,24$, sowie einen kleinen gelben bei $0,15$ (2 mal) und $0,56$ (1 mal). Ferner traten blau bei Rf $0,1$ (1 mal), lila bei Rf $0,32$ (2 mal) und orange bei Rf $0,37$ (1 mal) auf.

FeCl₃-Lösung.

Bei den 3 Harnextrakten zeigten sich braune Farbreaktionen bei Rf $0,23$ (1 mal) und $0,31$ (1 mal), sowie gelbe bei $0,12$ und $0,16$ (je 1 mal) und lila bei Rf $0,39$ (2 mal).

Millons Reagens.

Bei den 3 Harnextrakten sah man eine Reihe roter Flecken bei den Rf-Werten $\leq 0,1$ (1 mal), $0,31$ (1 mal), $0,8$ (2 mal) und rot bis braun $0,21$ - $0,23$ (2 mal); weiter hellbraun bei Rf $0,26$ (1 mal), lila bei Rf $0,17$ (2 mal) und orange bei Rf $0,59$ (1 mal).

Muniers Reagens.

Bei den 3 Harnextrakten ergaben sich Rotfärbungen bei den Rf-Werten $0,32$ (2 mal) und $0,7$ (1 mal), sowie auch 1 mal eine weiße Aussparung bei $0,27$.

Ninhydrin-Lösung.

Bei den 3 Harnextrakten sah man lediglich einen lila Fleck bei $0,31$ (1 mal) und schwach gelbe Flecken bei $0,36$ (2 mal).

d) Ätherextrakte von angesäuerten Leichenharnen.

Hier wurde nur ein Harnextrakt aufgesetzt.

Ehrlichs Reagens.

Es traten gelbe Flecken bei Rf 0,22 und 0,12 auf, braun bei Rf 0,1 und rot bei Rf 0,17.

FeCl₃-Lösung.

Bei diesem Indikator zeigte sich keine Reaktion.

Millons Reagens.

Es trat ein gelber Fleck bei Rf < 0,1 auf.

Muniers Reagens.

Hier zeigte sich ein roter Fleck bei Rf 0,88.

Ninhydrin-Lösung.

Gelbe Farbreaktion bei Rf < 0,1.

e) Ätherextraktionen von angesäuerten Leichenharnen im Soxhlet-Apparat.

Es wurde nur ein Harnextrakt aufgesetzt.

Ultraviolett Licht.

Folgende Fluoreszenzen waren zu sehen: braun bei dem Rf-Wert 0,1; lila bei 0,16, gelb bei 0,18, schwach rot bei 0,22, grüngelb bei 0,29, blau bei 0,6 und rot bei 0,86.

Ehrlichs Reagens.

Außer den gelben Flecken bei Rf 0,23 und Rf 0,16 traten noch ein brauner bei Rf 0,1 und ein lila bei Rf 0,19 auf.

FeCl₃-Lösung.

Hier waren 2 braune Flecke mit den Rf-Werten < 0,1 und 0,16 zu sehen.

Millons Reagens.

Rotfärbung bei Rf 0,13.

Muniers Reagens.

Schwachbraune Färbung bei Rf < 0,1.

Ninhydrin-Lösung.

Lila Fleck bei $R_f < 0,1$.

f) Chloroformextrakte von angesäuerten gealterten Leerharnen.

Auch hier handelt es sich nur um einen Extrakt.

Ultraviolettes Licht.

Es traten zwei blaue Fluoreszenzen bei den R_f -Werten $< 0,1$ und $0,17$ auf.

Ehrlichs Reagens.

Hier reagierte nur der gelbe Fleck bei $R_f 0,22$.

$FeCl_3$ -Lösung.

Braunfärbung bei $R_f 0,17$.

Ninhydrin-Lösung.

Hier war ein lila Fleck bei $R_f 0,19$ sichtbar.

g) Chloroformextraktionen von angesäuerten gealterten Leerharnen im Soxhlet-Apparat.

Ultraviolettes Licht.

Wie bei den Ätherextraktionen im Soxhlet-Apparat traten auch hier sehr zahlreiche Fluoreszenzen auf, vor allem blaue, braune und gelbe. Bei den 7 Harnextrakten zeigten sich braune Fluoreszenzen bei den R_f -Werten $< 0,1-0,1$ (7 mal), $0,14$ (1 mal) und braun bis blau bei $0,29$ (1 mal); blau bei $R_f < 0,1-0,12$ (3 mal), $0,14$ (1 mal), $0,24-0,3$ (3 mal), $0,45$ (1 mal), $0,4$ (1 mal); leuchtend blau bei $R_f 0,17$ (2 mal), $0,19$ (1 mal), $0,2-0,27$ (4 mal), $0,43$ (2 mal); hellblau bei $R_f 0,22$ (1 mal) und leuchtend hellblau bei $R_f 0,38$ (1 mal). Die gelben Absorptionen lagen bei den R_f -Werten $0,11$ (2 mal), $0,26$ (1 mal), $0,57-0,58$ (4 mal), $0,67-0,71$ (6 mal); grüngelb bei $R_f 0,1-0,16$ (2 mal), $0,3$ (1 mal). Schließlich war noch eine rote Fluoreszenz bei $R_f 0,34$ (1 mal) zu sehen.

Ehrlichs Reagens.

Bei den 7 Harnextrakten ließen sich gelbe Flecke bei den Rf-Werten 0,23-0,26 (7 mal), bei 0,14-0,17 (6 mal), bei 0,7 (1 mal), braune bei $Rf < 0,1$ (2 mal), blau bis lila bei 0,3-0,32 (2 mal), orange bei 0,37 (1 mal) und rote bei Rf 0,1 (1 mal) nachweisen.

FeCl₃-Lösung.

Bei den 7 Harnextrakten traten braune Reaktionen bei $Rf < 0,1$ (2 mal) und 0,13 (1 mal) auf, gelbe bei Rf 0,12 (1 mal), 0,17 (1 mal) und 0,25-0,26 (2 mal), rote bis orange bei Rf 0,15 (2 mal), orange bei 0,31 (2 mal) und lila bei Rf 0,39 (1 mal).

Millons Reagens.

Bei den 7 Harnextrakten gab es eine Braunfärbung bei $Rf < 0,1$ (1 mal), einen hellbraunen Fleck bei 0,36 (1 mal), braun bis gelbe bei Rf 0,21-0,26 (3 mal), rote bei 0,1-0,12 (3 mal) und 0,8 (2 mal), sowie orange bis rot bei 0,13-0,17 (3 mal).

Muniers Reagens.

Bei 7 Harnextrakten zeigten sich rote Farbflecke bei Rf 0,11-0,14 (3 mal), schwach rote bei 0,7 (1 mal), braun bis rote bei 0,32 bis 0,33 (3 mal); ferner ein orange Fleck bei 0,17 (1 mal) und gelb bei 0,26 (2 mal).

Ninhydrin-Lösung.

Bei den Harnextrakten traten lila Farben auf bei Rf 0,17 (1 mal), orange bis gelbe bei $Rf < 0,1$ -0,11 (4 mal), gelbe bei 0,25 (1 mal), schwach gelbe bei 0,36 (1 mal) und schwach rote bei $< 0,1$.

n) Chloroformextraktionen von angesäuerten Frischharnen im Soxhlet-Apparat.

Ultravioletttes Licht.

Auch hier waren braune und blaue Fluoreszenzen am häufigsten vertreten. Man sah bei den 3 Harnextrakten braune zwischen $Rf < 0,1$ -0,13 (3 mal), 0,27 (1 mal) und 0,78 (1 mal); blau bei 0,11 (2 mal) und 0,51 (1 mal), sowie leuchtend blau bei 0,21

(1 mal) und 0,43 (2 mal); gelb bei 0,58 (1 mal), gelbgrün bei 0,3 (2 mal), gelbbraun bei 0,37 (1 mal); rot bei 0,34 (1 mal) und grün bei 0,17 (1 mal).

Ehrlichs Reagens.

Bei 3 Harnextrakten sah man wieder die gelben Flecke bei Rf 0,23-0,24 (3 mal) und 0,15 (2 mal) sowie 0,56 (1 mal); ferner je einen braunen und gelben bei Rf 0,65 bzw. 0,32.

FeCl₃-Lösung.

Bei 3 Harnextrakten gab es je einen Fleck, und zwar braun bei Rf 0,31, gelb bei Rf 0,16, orange bei Rf 0,31 und lila bei Rf 0,39.

Millons Reagens.

Bei den 3 Harnextrakten sah man nur je einmal einen lila Fleck bei Rf 0,13 und einen schwach gelben bei Rf 0,36.

i) Chloroformextraktionen von angesäuerten Leichenharnen im Soxhlet-Apparat.

Es wurde nur ein derartiger Extrakt aufgesetzt.

Ultravioletttes Licht.

Hier zeigten sich eine ganze Reihe von Fluoreszenzen, und zwar braun bei Rf 0,1, 0,18, 0,31, 0,51; braunblau bei 0,4 und 0,8; blau bei 0,16, 0,23, 0,25 und gelb bei 0,62.

Ehrlichs Reagens.

Hier traten nur gelbe Farbreaktionen auf, und zwar bei den Rf-Werten 0,23, 0,12, 0,19, 0,64 und 0,78.

FeCl₃-Lösung.

Braunfärbung bei Rf 0,1 und 0,16, gelb bei 0,14.

Millons Reagens.

Hier gab es lila Reaktionen bei Rf 0,1 und 0,16, braune bei 0,3 und rotbraune bei Rf 0,23.

Muniers Reagens.

Es zeigten sich ein orange Fleck bei Rf 0,75 und 2 weiße Flecken bei Rf 0,1 und Rf 0,2.

Ninhydrin-Lösung.

Man sah 2 Flecke, und zwar einen lila bei Rf 0,15 und einen braunen bei 0,3.

j) Ätherextrakt vom Harn eines Bromsüchtigen.

Dieser Extrakt zeigte weder bei den Fluoreszenzen noch bei den Farbreaktionen irgendwelche Besonderheiten. Besprühen mit FeCl_3 -Lösung und Muniers Reagens ergaben keine Reaktion.

Ultraviolette Licht.

Es traten nur blaue Absorptionen bei den Rf-Werten 0,1, 0,19, 0,27 und 0,38 auf.

Ehrlichs Reagens.

Man sah zwei Flecke, einen gelben bei Rf 0,23 und einen lila bei Rf 0,19.

Millons Reagens.

Besprühen mit diesem Reagens ergab eine Braunfärbung bei Rf 0,1 und eine Rotfärbung bei Rf 0,13.

Ninhydrin-Lösung.

Eine lila Verfärbung bei 0,1 war festzustellen.

k) Übersicht über Anzahl und Art der verwendeten Harnextrakte.

(Tabelle 1)

6	Leerharne	Ätherextraktionen
1	Leerharn	Chloroformextraktion
9	Leerharne	Ätherextraktionen im Soxhlet-Apparat
8	Leerharne	Chloroformextraktionen im Soxhlet-Apparat
3	Frischharne	Ätherextraktionen im Soxhlet-Apparat
3	Frischharne	Chloroformextraktionen im Soxhlet-Apparat
1	Leichenharn	Ätherextraktion
1	Leichenharn	Ätherextraktion im Soxhlet-Apparat
1	Leichenharn	Chloroformextraktion im Soxhlet-Apparat
1	Harn von einem Bromsüchtigen	Ätherextraktion

1) Vergleichssubstanzen.

Zunächst waren die aufgefundenen Substanzen aus den Harnextrakten unbekannt. Es wurde nunmehr versucht, durch das Aufsetzen von Substanzproben, deren Vorkommen im normalen menschlichen Harn gesichert ist, Vergleichswerte zu erhalten, die einen Hinweis zur Identifizierung mancher Substanzen ermöglichen sollten. Die Auswahl erfolgte unter dem Gesichtspunkt der in der toxikologischen Praxis meistens angewendeten Extraktionstechnik, nach der bei vielen früheren Untersuchungen in unserem Institut die Erfahrung gemacht wurde, daß in den Rückständen der bei saurer Reaktion gewonnenen Extrakte zahlreiche, vorwiegend saure und chromogene Harninhaltsstoffe sich papierchromatographisch störend bemerkbar machten.

Die nachfolgenden Reinsubstanzen wurden zu Vergleichszwecken neben den Harnextrakten auf die Filterpapiere mit aufgesetzt; sie alle wurden jeweils mit den fünf angegebenen Reagenzien besprüht (in einzelnen Fällen noch mit Bromkresolgrün) sowie im UV-Licht betrachtet.

Acetessigsäureäthylester.

Die Acetessigsäure konnte nicht frei verwendet werden, weshalb ihre Äthyl- und Methylester chromatographiert wurden. Sie ergaben keine Farbreaktionen mit den genannten Indikatoren; darauf wurde versucht, sie durch Kochen mit NaOH zu spalten und die Spaltprodukte aufzusetzen. Hierbei zeigten die Spaltprodukte bis auf die Fluoreszenzen gleiches Verhalten, und zwar bei FeCl_3 -Lösung schwachbraune Flecken von 1 cm Durchmesser, bei Munier eine weiße Aussparung und bei Bromkresolgrün blaue Flecken; der Rf-Wert war immer 0,05. Im ultravioletten Licht zeigten die Spaltprodukte zunächst übereinstimmend hellblaue Fluoreszenzen um den Startpunkt und schwach rotlila bei Rf 0,05 und leuchtend hellblaue bei Rf 0,85; ein Spaltprodukt zeigte noch blaue Absorptionen bei Rf 0,13 und 0,78.

Ameisensäure.

Im UV-Licht zeigte sie keine erkennbare Fluoreszenz. Beim Besprühen reagierte sie mit der FeCl_3 -Lösung und mit Muniers Reagens als orange getüpfelter bzw. weißer runder Fleck von 2 cm Durchmesser; der Rf-Wert lag bei 0,9.

Einige Aminosäuren.

dl - A l a n i n rief im UV-Licht bei Rf 0,04 eine schwach blaue Fluoreszenz hervor, sonst gab es nur mit Ninhydrin-Lösung einen kleinen runden lila Fleck von 1/2 cm Durchmesser, der nach 2 Tagen in ein kaum wahrnehmbares Braun überging.

1 (-)-C y s t i n gab um den Startpunkt eine schwachblaue Fluoreszenz, bei Ehrlichs Reagens ebenda einen kleinen gelben Fleck, bei Ninhydrin-Lösung einen lila, der später wieder verschwand. G l y c o c o l l u m nach S ö r e n s e n zeigte auch nur um den Startpunkt Reaktionen, und zwar im UV-Licht eine hellblaue Fluoreszenz mit blauer Kapuze, bei Ehrlichs Reagens einen gelben Fleck, bei FeCl_3 -Lösung einen braunen Ring, bei Millons Reagens einen schwachgelben Fleck (verschwand später), bei Muniers Reagens eine weiße Aussparung mit schmalen gelbem Rand und bei Ninhydrin-Lösung einen runden lila Fleck, der in hellbraun überging.

1(-)-L e u c i n. Eigenartig war hier das Auftreten von mehreren farblich unterscheidbaren Flecken, besonders bei Besprühen mit Ninhydrin-Lösung. Im einzelnen zeigten sich bei Rf 0,19 und 0,28 schwachblaue Fluoreszenzen, bei Besprühen mit Ehrlichs Reagens bei Rf 0,09 und 0,21 gelbe Flecke, bei Ninhydrin-Lösung ineinander übergehende, aber farblich scharf abgrenzbare Flecke bei den Rf-Werten 0,1 (lila), 0,25 (rot), und 0,28 (schwachlila). Nach Tagen blieb nur bei Rf 0,1 und 0,19 eine Rotfärbung zurück.

d l - T r y p t o p h a n . Im ultravioletten Licht war eine hellblaue Fluoreszenz, die sich schwanzförmig bis zum Startpunkt zog, bei Rf 0,12 zu erkennen. Bei den Farbreaktionen ergaben Ehrlichs Reagens einen kleinen, ovalen, gut abgegrenzten blauen Fleck, FeCl_3 -Lösung einen etwas langgestreckten orangefarbenen, Millons Reagens einen kleinen ovalen gelb-orangefarbenen, alle mit dem Rf-Wert 0,12; Besprühen mit Ninhydrin-Lösung einen lila Fleck, der in seinem oberen Teil heller als im unteren war und später in ein Braun bzw. Schwachbraun übergang. (Rf 0,12). Besprühen mit Muniers Reagens ergab keine Reaktion.

T y r o s i n. Betrachten im ultravioletten Licht ergab keinen Befund. bei den Farbindikatoren zeigten sich nur bei Millon und Ninhydrin kleine schmale Bänder, die vom Startpunkt weg nach oben die Form einer Haarnadel hatten, mit dem Rf-Wert von 0,05.

Asparaginsäure.

Im UV-Licht gab es eine leuchtend hellblaue Fluoreszenz um den Startpunkt und einen sehr schwachblauen kleineren Schwanz Rf $\leq$ 0,1. Bei Ehrlichs Reagens und FeCl_3 -Lösung traten schwachgelbe Flecke bei Rf 0,17 auf. Muniers Reagens ergab einige Flecke, nämlich rot getupft bei Rf $\leq$ 0,1, orange bei Rf 0,17 und schwachrot bei Rf 0,22. Sämtliche Farben verblichen nach Tagen.

Barbitursäure.

Sie ergab keinen eindeutigen Rf-Wert. Im UV-Licht zeigte sie sich nicht, bei Besprühen mit Ehrlichs Reagens gab es einen orange, nach 2 Tagen dunkelroten Flecken bei Rf $\leq$ 0,1 und einen orange Fleck bei 0,16; beide verblaßten später etwas. Bei FeCl_3 -Lösung gab es um den Startpunkt einen dunkellila getupften Fleck mit einer etwas heller getupften Kapuze Rf $\leq$ 0,1, und bei der Ninhydrin-Lösung eine kleine rote Verfärbung um den Startpunkt.

Benzoessäure.

Im UV-Licht war vom Startpunkt weg eine breite schwachblaue Fluoreszenz zu sehen, die nach oben durch eine hellgelbe Spitze abgeschlossen war. Besprühen mit FeCl_3 -Lösung ergab eine große, in der Mitte breite lanzettförmige rote Verfärbung, die jedoch scharf abgegrenzt war und nach Tagen verblaßte; Muniers Reagens zeigte eine ebensolche weiße Aussparung. Der Rf-Wert lag immer bei 0,37.

Bernsteinsäure.

Bernsteinsäure ergab nur sehr schwache Reaktionen um den Startpunkt (Rf 0,00).

Im UV-Licht sah man hier einen schwachblauen runden Fleck, bei Ehrlichs Reagens eine weiße Aussparung, bei FeCl_3 -Lösung einen orangegetüpfelten Ring, bei Muniers Reagens eine weiße Aussparung mit braunem Ring, und bei der Ninhydrin-Lösung einen lila Ring, der später verging.

Brenztraubensäure.

Im ultravioletten Licht konnte man eine schwachgrüne Fluoreszenz bei Rf 0,15 und eine haubenartige von schwarzblauer Farbe bei Rf 0,8 erkennen. Auch die Farbreaktionen entsprachen diesen beiden Rf-Werten. Besprühen mit FeCl_3 -Lösung gab einen großen, unscharf begrenzten blaurötlichen Fleck von Rf 0,8; bei Muniers Reagens eine weiße Aussparung bei Rf 0,15 (verschwand später) und einen schwach orangefarbenen haubenförmigen Fleck bei Rf 0,8. Bei Besprühen mit dem Indikator Bromkresolgrün traten 2 gelbe Flecke bei Rf 0,15 und 0,8 auf.

Essigsäure.

Diese Säure zeigte keine Fluoreszenz und reagierte nur mit der FeCl_3 -Lösung als runder schwach gelb getüpfelter Fleck von 1 cm Durchmesser, der später verblaßte. Muniers Reagens ergab einen ebensolchen weißen Fleck von Rf-Wert 0,09.

Harnstoff.

Harnstoff zeigte im UV-Licht keine Fluoreszenz, reagierte aber beim Besprühen mit Ehrlichscher Lösung als deutlicher gelber runder Fleck mit dem Rf-Wert 0,23.

Harnsäure.

Harnsäure wurde einmal in Alkohol gelöst chromatographiert und zeigte dabei praktisch keine Ergebnisse. Anders war es bei ihrer Lösung NaOH; dabei gab es bei einem Rf von 0,00 sehr deutliche Reaktionen. Beim Betrachten im UV-Licht sah man um den Startpunkt eine runde Fluoreszenz von 4 cm Durchmesser, und zwar in den Farben von innen nach außen gelb, schwachgelb und schwach rötlich. Beim Besprühen mit den Indikatoren traten die Flecke in demselben Ausmaß auf, nämlich eine weiße Aussparung mit schwach gelbem Rand bei Ehrlichs Reagens, orange getüpfelt bei FeCl_3 -Lösung, bei Muniers Reagens eine weiße Aussparung, bei Ninhydrin-Lösung schwach gelb; bei Millons Reagens gab es einen etwas kleineren kräftig mittelbraunen Fleck von 2,8 cm Durchmesser.

Hippursäure.

Hippursäure ergab nur mit Ninhydrin einen ovalen, gut abgrenzbaren lila Fleck, ferner mit dem Indikator Bromkresolgrün einen gelben. Das Papierchromatogramm wurde außerdem eine Stunde lang bei 200°C in den Heißluftschrank gelegt, und die Hippursäure zeigte sich als kräftig rotbrauner Fleck. Der Rf-Wert lag stets bei 0,19. Im ultravioletten Licht zeigte sich nichts.

Indolyl-III-Essigsäure.

Beim Betrachten im ultravioletten Licht zeigten sich verschiedenfarbige Fluoreszenzen, und zwar vom Startpunkt weg ein schwachblauer Streifen Rf 0,19, daran schloß sich eine fast schwarze

Kapuze Rf 0,33, und hieran ein gelblicher Streifen. Mit den Farb-indikatoren zeigte die Säure sehr deutliche Reaktionen bei dem Rf-Wert 0,3. Mit Ehrlichs Reagens ergab sie einen großen, ovalen, auf rotem Grund dichtblau gesprenkelten Farbfleck, mit der FeCl_3 -Lösung einen auf orange Grund dunkelrot gesprenkelten Fleck von denselben Ausmaßen, mit Millons Reagens einen auf hellbraunem Grund dicht gesprenkelten dunkelroten, mit Muniers Reagens einen grauen, später rotlila und mit Ninhydrin-Lösung einen bräunlich bis dunkelroten Fleck.

Milchsäure

Sie ergab Reaktionen von großen, nach dem Startpunkt zu keulenförmigen, unscharf begrenzten Ausmaßen. Daher wurde eine genaue

Rf-Bestimmung unmöglich, der Wert liegt bei etwa 0,2. Im UV-Licht zeigte sich eine derartige blaue Fluoreszenz, bei FeCl_3 -Lösung und Bromkresolgrün ein gelber Fleck und bei Muniers Reagens eine weiße Aussparung.

Oxalsäure.

Im UV-Licht sah man um den Startpunkt eine sehr schwache Fluoreszenz, die sich etwas nach oben zog. Sonst war nur bei FeCl_3 ein schmaler Ring angedeutet, bei Muniers Reagens ebenfalls ein lila getüpfelter Ring; beide Farben verblaßten nach Tagen vollständig. Der Rf-Wert war demnach 0,00.

Pepsin.

Man sah im UV-Licht eine hellblau bis braune Fluoreszenz um den Startpunkt mit schwachblauem Schwanz Rf 0,19 und eine leuchtend hellblaue bei Rf 0,85. Ehrlichs Reagens und FeCl_3 -Lösung ergaben runde schwachgelbe Flecke bei Rf 0,17, Muniers Reagens orange bei Rf 0,17, Ninhydrin-Lösung einen schwach lila getüpfelten Fleck bei Rf 0,3; dieser Fleck verblich später.

Pankreatin.

Zeigte im UV-Licht vom Start weg einen nach oben zu geschlossenen schwachblauen Streifen und bei der Ninhydrin-Lösung einen entsprechenden lila Streifen (verschwand später) bei dem Rf-Wert 0,19.

Trichloressigsäure.

Sie ergab nur mit dem Indikator Bromkresolgrün eine vom Startpunkt weggehende sehr breite, nach oben zu geschlossene, unscharf begrenzte gelbe Verfärbung vom ungefähren Rf-Wert 0,52.

Allantoin, Phenol, o-Kresol, Guanin, Buttersäure, Propionsäure und Kreatin wurden ebenfalls mit chromatographiert, zeigten aber weder im ultravioletten Licht noch mit den Farbindikatoren irgendwelche Reaktionen.

III. Besprechung der Ergebnisse.

Den in der Arbeit durchgeführten Versuchen lag das Bestreben zugrunde, Aufschlüsse über das Auftreten von Harnsubstanzen bei papierchromatographischen Analysen im alkalischen Milieu durch Leeharnuntersuchungen zu gewinnen und deren Identifizierung durch Testsubstanzen zu versuchen. Bei der Harnvorbereitung erwies sich die Extraktion im Soxhlet-Apparat der einfachen Ausschüttelung mit Äther oder Chloroform überlegen, weil diese Methode offenbar die bessere Möglichkeit einer Sichtbarmachung von Spurenstoffen bietet, die bei der einfachen Extraktion kleiner Harnmengen eventuell unerkannt blieben, da die Erfassungsgrenze (6 - 60 Gamma) nicht überschritten war. So waren auf dem Papierchromatogramm zahlreichere und kräftigere Fluoreszenzen und Flecke zu sehen, woraus sich weiter auf eine höhere Konzentration der einzelnen Substanzen in diesen Extrakten schließen läßt.

a) Bei einem Vergleich zwischen den Äther- und Chloroformextrakten angesäuerter Harne läßt sich allgemein feststellen, daß bei erstgenannten verschiedene Substanzen besser in Lösung gingen. Es ergaben sich hier die nachfolgend aufgeführten Farb- und Fluoreszenzreaktionen, die bei der Chromatographie der sauren Chloroformextrakte nicht auftraten:

Bei Ehrlichs Reagens waren es die rot bis lila Flecke vom Rf-Wert 0,16-0,19, die grünen bei Rf 0,19 und die blauen bei Rf 0,21. Die FeCl₃-Reaktion zeitigte bei Rf 0,26 grüne, Rf 0,67 rote und 0,33 rotbraune Flecke. Millons Reagens ergab gelbe Flecke bei Rf 0,12, 0,3, 0,15 und lila Flecke bei Rf 0,1 und 0,12 bis 0,16. Muniers Reagens zeigte weiße Aussparungen bei den Rf-Werten 0,1 bis 0,11; 0,2; 0,31 und braun bis rote Flecke bei Rf 0,1. Die Ninhydrin-Lösung zeitigte rote Flecke bei Rf 0,2 und 0,35, lila bei Rf 0,31, braune bei 0,3 und weiße bei 0,37. Im UV-Licht sah man blaue Fluoreszenzen bei den Rf-Werten 0,7-0,8 und 0,89.

Flecken, die nur bei Chloroformextrakten angesäuerter Harne auftraten, waren bei Ehrlichs Reagens gelbe vom Rf-Wert 0,7 und im UV-Licht hellblaue Fluoreszenzen vom Rf-Wert 0,22.

b) Bei vergleichenden Betrachtungen zwischen Frischharnen und gealterten Harnen ließen sich bei erstgenannten etwas weniger Substanzen chromatographisch nachweisen, (siehe II/2), was die Vermutung nahelegt, daß bei den älteren Harnen bereits chemische oder fermentative Prozesse stattgefunden haben.

Nur in den Frischharnen zeigten sich folgende Flecke: bei Besprühen mit Ehrlichs Reagens gelbe bei Rf 0,56, braune bei Rf 0,65; mit Millons Reagens orangefarbene bei Rf 0,59, mit Muniers Reagens eine weiße Aussparung bei Rf 0,27 und bei Ninhydrin-Lösung lila Flecke bei Rf 0,31. Im UV-Licht traten grüne (Rf 0,15) blaue (Rf 0,51) und braune (Rf 0,78) Fluoreszenzen allein in den Frischharnextrakten auf, dagegen nicht die gelb bis grünen Absorptionen bei den Rf-Werten 0,1-0,16 und 0,67-0,71.

c) Die Analyse der Leichenharnextrakte ergab keine besonderen Farbreaktionen; aber im ultravioletten Licht traten abweichende Fluoreszenzen auf, und zwar in den Farben lila bei Rf 0,16, blau bei Rf 0,23-0,25 und 0,6, braun bei Rf 0,31, gelb bei Rf 0,18 und 0,62, rot bei Rf 0,22 und 0,86.

d) Die papierchromatographische Untersuchung der Testsubstanzen zeigte, daß das Lösungsmittelgemisch oder die Indikatoren bzw. beides zusammen nicht für alle geeignet sind. Einige Vergleichssubstanzen reagierten überhaupt nicht, andere zu schwach und ergaben keine eindeutigen oder niedrige Rf-Werte, um sie verwerten zu können. Brauchbare Ergebnisse wurden mit folgenden Reinsubstanzen erzielt: Benzoesäure Rf 0,37, Brenztraubensäure Rf 0,15 und 0,8, Harnstoff Rf 0,23, Harnsäure Rf 0,00, Hippursäure Rf 0,19, Indolyl-III-Essigsäure Rf 0,3 und Tryptophan Rf 0,12.

e) Bei Vergleichen der aufgetretenen Harnflecken mit denen der Testsubstanzen erwiesen sich der beim Besprühen mit Ehrlichs Reagens immer auftretende gelbe Fleck mit dem Rf-Wert 0,22-0,26 als Harnstoff, der bei der Ninhydrin-Reaktion bei Rf 0,19 sichtbare Fleck als Hippursäure, während die bei den Farbreaktionen auftretende Fleckenserie um den Rf-Wert 0,3 der Indolyl-III-Essigsäure entsprechen dürfte. Weiter decken sich die bei der FeCl_3 -Reaktion erschienenen rotbraunen Harnflecke um Rf 0,37 und braunen um Rf 0,12 mit den Rf-Werten der Benzoesäure bzw.

des Tryptophans, die bei der Munier-Reaktion vorhandenen orange Flecken um den Rf-Wert 0,8 und weißen Aussparungen um Rf 0,09 mit denen der Brenztraubensäure bzw. Ameisensäure und Essigsäure, sowie die lila Farbreaktionen um Rf 0,12 bei Besprühen mit Ninhydrin-Lösung wieder mit dem Tryptophan.

f) Schwankungen in der Rf-Wertbestimmung eines Stoffes sind nicht zu vermeiden, sie liegen in der Art des verwendeten Lösungsmittels, der Konzentration der einzelnen Substanzen im Untersuchungsmaterial, des Filterpapiers, der Temperatur, Laufzeit und anderen Arbeitsbedingungen begründet. Daher geht es nicht an, gleiche Reaktionen auf den Papierchromatogrammen mit kleinen Differenzen im Rf-Wert als verschiedene Stoffe anzusprechen. Nach D e c k e r können die Differenzen bis zu 10 % betragen. Andererseits sei betont, daß gerade in Anbetracht der Rf-Wert-Schwankungen die Identifizierung eines Stoffes nicht in jedem Falle auf einen Rf-Wert und auf die Reaktion mit nur einem Reagens gestützt werden kann.

g) Die Haltbarkeit der meisten Flecken auf den Papierchromatogrammen bestand noch nach Monaten, allerdings nur selten in ihrer ursprünglichen Schärfe und Farbe. Vor allem reagieren bei Aufbewahrung der mit verschiedenen Reagenzien behandelten Chromatogramme in einer Schachtel auch nach völliger Trocknung die Dämpfe miteinander, so daß es zu den erwähnten Farbänderungen und zum Teil neuen Fleckenbildungen kam.

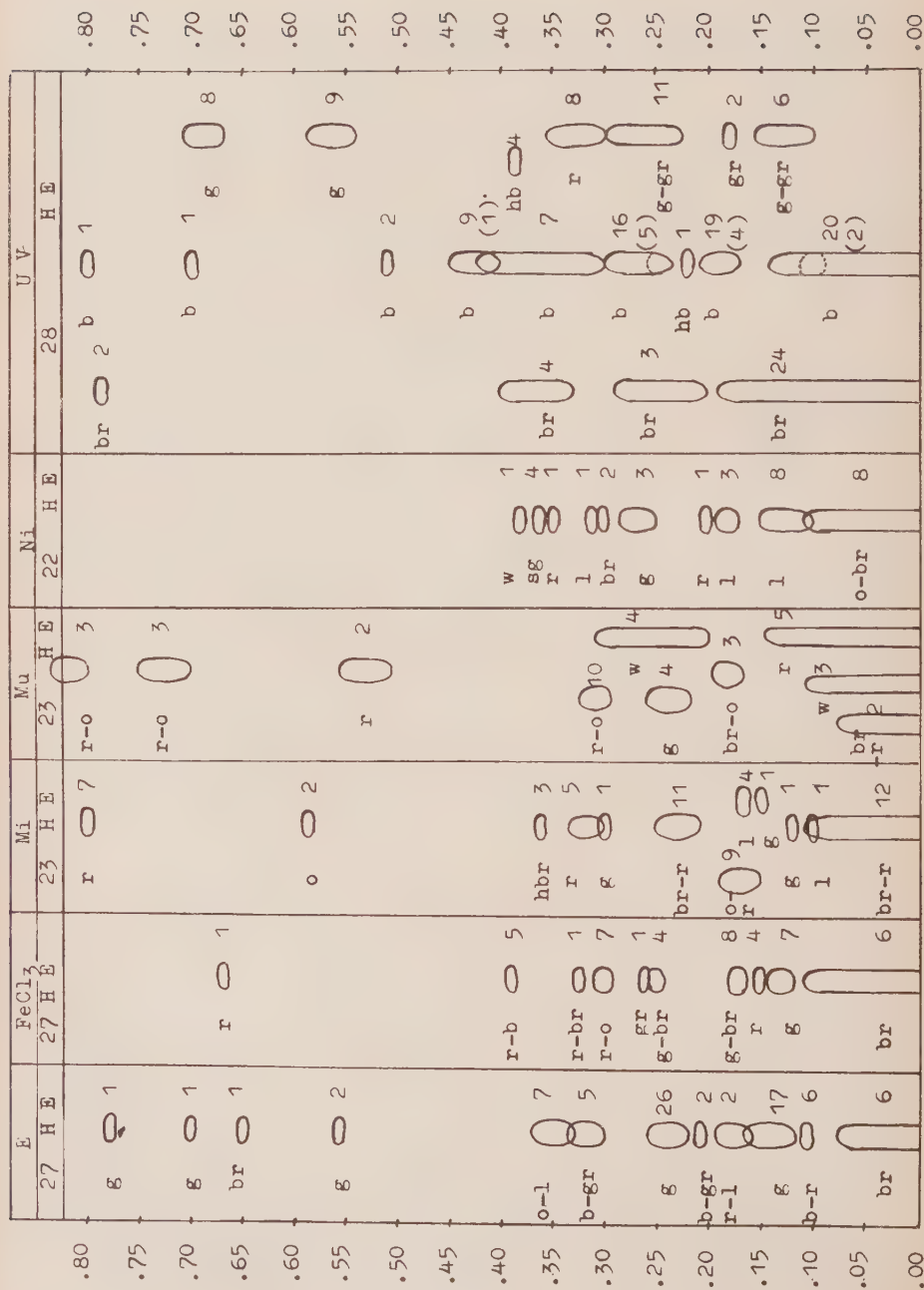
IV. Übersicht der Ergebnisse (Tabelle 2).

=====

In der Tabelle sind die Ergebnisse von allen gealterten und frischen Leerharnextrakten (Äther- und Chloroformextrakte angesäuerter Harnen) zusammengefaßt, da bei beiden Extraktionsmethoden viele Reaktionen gemeinsam auftreten. Zur besseren Übersicht wurden die gefundenen Resultate etwas schematisiert. Die Flecken sind innerhalb der Grenzen ihrer Rf-Werte eingetragen. Die Farbabkürzung steht vor, die Häufigkeit des Auftretens hinter jedem Fleck. Neben die blauen Fluoreszenzen ist die Zahl der leuchtend blauen Absorptionen in Klammern gesetzt; in der Gesamtzahl ist sie mit enthalten. Unter den Namen der Farbindikatoren steht die Anzahl der damit behandelten Harnextrakte.

Verzeichnis der in der Tabelle 2 verwendeten Abkürzungen:

HE	= Harnextrakte	br	= braun
E	= Ehrlichs Reagens	b	= blau
FeCl ₃	= FeCl ₃ -Lösung	gr	= grün
Mi.	= Millons Reagens	g	= gelb
Mu	= Muniers Reagens	r	= rot
Ni	= Ninhydrin-Lösung	o	= orange
UV	= ultraviolett Licht	l	= lila
		w	= weiß
		hbr	= hellbraun
		hb	= hellblau
		sg	= schwachgelb



V. Zusammenfassung.

=====

In der vorliegenden Arbeit wurden papierchromatographische Untersuchungen von sauren Leerharnen nach der aufsteigenden Methode im alkalischen Milieu (Butanol - Ammoniak - Wassergemisch) durchgeführt.

Einige Substanzen wurden identifiziert: Harnstoff, Hippursäure, Indolyl-III-Essigsäure. Folgende weitere Substanzen waren zwar mit einigen Reagenzien chromatographisch gut erfaßbar, aber die Identifizierung aus Harnextrakten konnte nicht mit letzter Sicherheit durchgeführt werden: Tryptophan, Benzoesäure, Harnsäure, Brenztraubensäure, Ameisensäure und Essigsäure.

Viele Flecken mit annähernd gleichen Rf-Werten traten mehrmals auf, ließen sich aber mit keiner der von mir untersuchten Substanzen vergleichen. Wenn auch die Identifizierung dieser Flecke nicht möglich war, so ist dennoch von praktischer Bedeutung, Lage und Farbreaktion dieser häufig auftretenden, noch unbekannten Substanzflecke zu erkennen. Es ist deshalb wichtig, beim Auftreten unbekannter Substanzflecke in der forensisch-toxikologischen Praxis zunächst einen Vergleich mit solchen Flecken anzustellen, die von uns in Leerharnen gefunden wurden, um sie nicht mit Giften oder deren Ausscheidungsprodukten zu verwechseln.

Ferner geben diese Untersuchungsergebnisse einen gewissen Überblick über Häufigkeit und mengenmäßige Verteilung bestimmter Harninhaltsstoffe bzw. chromogener Substanzen und lassen bei auftretenden Verschiebungen bei gleichbleibender Technik qualitative und halbquantitative Rückschlüsse zu.

VI. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s .

=====

1. Ames, S.R., Risley, H.A.
Fed.Proc. 1949, 142. Zit. nach Cramer.
2. Arold, B.
Beitrag zur Frage des Nachweises von Thiobarbituraten
im Harn.
Inaug.-Diss. Erlangen (noch nicht veröffentlicht).
3. Cramer, F.
Papierchromatographie.
Verlag Chemie, Weinheim 1953, S.23, 62.
4. Boscott, R.J.
Paper Chromatography of Urinary Acids and Phenols.
Biochem. J. 49, LXXIV (1951).
5. Decker, P.
Papierchromatographie.
Die Pharmazie, Jahrg.8, Heft 5 u.6, S. 371/378 u.
477/484.
6. Decker, P.
Papierchromatographische Untersuchungen von Farbreaktionen.
Ztschr. f.d.ges. Innere Med. u. ihre Grenzgeb.,
Heft 19/20, S.966, Jahrg. 9 (1954).
7. Decker, P.
Nachweis einer Serie von verschiedenen Harnindikanen und
Indikanoiden, ähnlichen Stoffwechselprodukten des Skatols
und 2-Methyl-Indols mit Hilfe der Fluorindalreaktion, einer
neuen papierchromatographischen Indikanreaktion.
Hoppe-Seylers Ztschr. f. phys. Chem. 300 Bd. (1955) S. 260.
8. Decker, P. und J. Sano,
Identifizierung von Indoxylschwefelsäure als Chromogen der
in der Kälte eintretenden Millon-Reaktion im Harn.
Hoppe-Seylers Ztschr. f. phys. Chem. 300 Bd.(1955),
252-260.
9. Dent, C.E.
Symposia Bioch. Soc. 3, 34 (1949) Zit. nach Cramer.
10. Dent, C.E., Stepka, W., Steward, F.C.
Nature (London) Biochem. J. 41, 240 (1947). Zit.nach Cramer.

11. Documenta Geigy, J.R. Geigy A G Basel,
Ausgabe 1955, S.274-278.
12. Fabian, F.
Beitrag zum Nachweis von Persedon im Harn.
Inaug.-Diss. Erlangen, 1953.
13. Hall, D.A.
Biochem. J. 43, L VIII (1948). Zit. nach Cramer.
14. Hoppe-Seyler/Thierfelder.
Physiologisch-u.pathologisch.-chem. Analyse.
9.Auflage 1924, Verlag Julius Springer Berlin.
15. Jatzkewitz, H.
Ein klinisches Verfahren zur Bestimmung von basischen
Suchtmitteln im Harn.
Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. 292 Bd. (1953).
16. Kehl, R. und Stich, W.
Die Papierchromatographische Analyse der Porphyrine.
Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol.Chem. 289, 6 (1951).
17. Kehl, R. und W. Stich,
Über die papierchromatographische Analyse der Porphyrine
und Gallenfarbstoff.
Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol.Chem. 290, 151 (1952).
18. Kaiser, H. und H. Jori.
Der toxikologische Nachweis von Dromoran "Roche" im Harn
mit Hilfe der Papierchromatographie.
Pharmazeut.Ztg.-Nachrichten 1952, Nr.36.
19. Palmieri, V.M. und C.Romano.
Acta med. leg. (Liège), 6, 239-243 (1953)
20. Pfeil, E. und H.J. Goldbach.
Klin.Wschr. 1011-1012, (1953). Zit.nach Schmidt.
21. Pfeil, E.
Vortrag auf der Jahrestagung der Dtsch.Ges. f. soziale u.
gerichtl. Med. in Bonn 1953. Zit. nach Schmidt.
22. Raventós, J.
The Distribution in the Body and Metabolic Fate of
Barbiturates.
The Journal of Pharmacy and Pharmacology, Vol. 6, 4,
April (1954), 218.
23. Seifert, P. und Geldmacher,G.
Zur papierchromatographischen Analytik von aus alkali-
ischem Milieu extrahierbaren organischen Giften.
Archiv f.Toxikologie, Bd. 15, S. 305-312, 1955.

24. Szeremeta, S.
Über die Fluoreszenz des Harns.
Inaug.-Diss. Erlangen 1955.
25. Scholz, H.
Über den papierchromatographischen Nachweis von Pyramidon,
Antipyrin und deren Ausscheidungsprodukte im Harn.
Inaug.-Diss. Erlangen, 1954.
26. Schmidt, G.
Toxikologische Erfahrungen bei E 605-Vergiftungen.
Arch. Toxicol. 15, 361 (1955)
27. Weinig, E. und G. Schmidt.
Über die Ausscheidung von Arzneimitteln im Schweiß und
deren Nachweis in Körperwäsche.
Sonderdruck aus Kriminalwissenschaft, Märzausgabe,
Beilage zur Kriminalistik, Heft 3/54.

Herrn Professor Dr.Dr. E. W e i n i g danke ich aufrichtig
für die Überlassung des Themas.

Ebenfalls danke ich Herrn Dr. S c h m i d t sehr für seine
Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

L e b e n s l a u f .

Am 5. August 1931 wurde ich, Christel Waiden, geb. Müller, als Tochter des Zahnarzteehepaares Dr. Kurt Müller und Dr. Ilse Müller, geb. Kuba, in Greifswald geboren.

In Münchberg/Ofr. besuchte ich die Volksschule und Oberrealschule und legte im Juli 1950 die Reifeprüfung ab. Im Wintersemester 1950/51 begann ich mit dem Studium der Zahnheilkunde an der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen und bestand im März 1952 das Physikum, am 18. Juni 1954 das Staatsexamen. Anschließend war ich als Assistentin in der elterlichen Praxis in Friedrichshafen tätig. Seit Ende April 1955 arbeite ich an meiner Doktorarbeit im Institut für Gerichtliche Medizin und Kriminalistik in Erlangen.

Ich bin mit dem Zahnarzt Dr. Roman Waiden verheiratet.



